

**ESTUDIO PILOTO DE ECOTOXICIDAD EN LA PARTE MEDIA DEL RÍO  
PASTO CON EL BIO-INDICADOR *ALLIUM CEPA*.**

**DANIELA INKA & DIANA SÁNCHEZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS  
DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES Y SISTEMAS  
AGROFORESTALES  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
SAN JUAN DE PASTO**

**2018**

**ESTUDIO PILOTO DE ECOTOXICIDAD EN LA PARTE MEDIA DEL RÍO  
PASTO CON EL BIO-INDICADOR *ALLIUM CEPA*.**

**DANIELA INKA & DIANA SÁNCHEZ**

Trabajo de grado para optar el título de Ingeniero Ambiental

**Director:**

**Msc. DIANA CAROLINA MORALES PABÓN**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS  
DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES Y SISTEMAS  
AGROFORESTALES  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
SAN JUAN DE PASTO**

**2018**

**NOTA DE RESPONSABILIDAD**

Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

---

**Diana Carolina Morales Pabón**  
**Directora**

---

**Mario Alberto Jurado**  
**Jurado**

---

**James Rosero Carvajal**  
**Jurado**

**San Juan de Pasto, Agosto de 2018**

## **DEDICATORIA**

No siempre con quien se inicia un camino es con quien se termina, pues entre más difícil se ponga, es donde realmente se quedan los mejores guerreros. No podemos olvidar de dónde venimos, para que siempre conservemos nuestra esencia como personas y sobre todo, aquello que nos unió en esta investigación, “salvar el planeta de aquellos que lo quieren acabar.”

Que los mejores vientos soplen a nuestro favor, que con cada meta culminada inicie una nueva y que nunca se terminen las ganas de aprender cada día más.

A Dios por sus bendiciones cada día,

A nuestros padres, por su apoyo inquebrantable,

A nuestros familiares, amigos y docentes que nos brindaron su apoyo y consejos en este camino.

*“Si los hechos no encajan en la teoría, cambie los hechos.”* Albert Einstein

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, este trabajo es símbolo de su abundancia divina, esa inteligencia perfecta de la vida que ha provisto todo lo necesario para llevar a cabo este proceso con éxito.

A nuestros padres, que con su entrega, apoyo, paciencia, ejemplo y amor han hecho posible que alcancemos hoy esta meta, gracias por cada consejo y cada abrazo que nos llenó de ánimos para avanzar, este logro también es de ustedes, son nuestra mayor motivación.

A nuestros hermanos, primos y demás familiares, que nos brindaron su apoyo e hicieron ameno este camino, porque no solo es alcanzar un objetivo sino disfrutar de todo su proceso.

A nuestros amigos, que son pocos pero firmes, sus palabras de aliento y su apoyo nos hicieron de esta, la mejor experiencia de nuestras vidas.

A la Magister Diana Carolina Morales quien dirigió todo este trabajo, gracias por la paciencia dedicación y amistad, su guía fue clave para iniciar y culminar satisfactoriamente.

A nuestros jurados Mario Jurado y James Rosero, por compartir sus conocimientos e impulsarnos a mejorar como futuras profesionales.

Los amamos, gracias por hacer esto posible.

## RESUMEN

Se evaluó la toxicidad en agua superficial y sedimentos en la cuenca media del río Pasto, el cual recibe los vertimientos de aguas domésticas e industriales que han degradado su estado. Para ello, se desarrollaron ensayos de toxicidad aguda utilizando *Allium cepa* (72 h) y se determinó la Concentración de Inhibición Media ( $IC_{50}$ ), expresada en Unidades Tóxicas (UT) además de pH, temperatura ( $T^{\circ}$ ), oxígeno disuelto (OD), demanda bioquímica de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO), cadmio (Cd), cromo total (Cr), cromo hexavalente ( $Cr_{6+}$ ), mercurio (Hg), plomo (Pb), aluminio (Al), amonio ( $NH_4$ ) en aguas y materia orgánica (MO), pH, plomo (Pb) y cromo hexavalente ( $Cr_{6+}$ ) en sedimentos. Se realizaron dos muestreos, en época seca y húmeda, distribuidos en tres puntos, La Carolina, Dos Puentes y El Polvorín, distinguidos por presentar las principales descargas de agua residual. Una vez llevado a cabo el test de toxicidad sobre las muestras de agua, se encontró un nivel tóxico para ambas épocas del año, por el contrario, los sedimentos se encontraron en un nivel moderado para la época húmeda. Además, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) el cual arrojó una relación entre DQO, DBO, Cd,  $Cr_{6+}$ , OD,  $IC_{50}$  para el primer componente y  $T^{\circ}$ , pH para el segundo componente en las muestras de agua, por otra parte, en sedimentos el primer componente relacionó  $Cr_{6+}$ , Pb y MO y para el segundo componente pH,  $IC_{50}$ . Los resultados encontrados alertan sobre el efecto contaminante que presenta la parte media del río, siendo necesario continuar con estudios ecotoxicológicos en la cuenca río Pasto.

**Palabras claves:** Agua residual, Agua superficial, Contaminante, Muestreo, Sedimentos.

**ABSTRACT**

An analysis of the toxicity in surface water and sediments in the middle basin of the Pasto River was made, which receives the discharges of domestic and industrial waters that have degraded its state. For this, acute toxicity tests were developed using *Allium cepa* (72 h) and the Medium Inhibition Concentration ( $IC_{50}$ ), expressed in Toxic Units (TU) was determined in addition to pH, temperature ( $T^{\circ}$ ), dissolved oxygen (DO), biochemical oxygen demand (COD), biological oxygen demand (BOD), cadmium (Cd), total chromium (Cr), hexavalent chromium ( $Cr_{6+}$ ), mercury (Hg), lead (Pb), aluminum (Al), ammonium ( $NH_4$ ) in water and organic matter (MO), pH, lead (Pb) and hexavalent chromium ( $Cr_{6+}$ ) in sediments. Two samplings were carried out, in dry and humid times, distributed in three points: La Carolina, Dos Puentes and El Polvorín, distinguished by presenting the main discharges of residual water. Once the toxicity test was carried out on the water samples, a toxic level was found for both seasons, on the contrary, the sediments were found at a moderate level for the wet season. In addition, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted which showed a relationship between COD, BOD, Cd,  $Cr_{6+}$ , OD,  $IC_{50}$  for the first component and  $T^{\circ}$ , pH for the second component in the water samples, and another part, in sediments the first component related  $Cr_{6+}$ , Pb and MO and for the second component pH,  $IC_{50}$ . The results found warn about the polluting effect of the middle part of the river, being necessary to continue with ecotoxicological studies in the river basin Pasto.

**Keywords:** Residual water, Superficial water, Pollutant, Sampling, Sediments.

**CONTENIDO**

INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	2
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	6
CONCLUSIONES.....	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17

## **INTRODUCCIÓN**

Los ecosistemas acuáticos con el paso del tiempo se han visto degradados a causa de las diferentes actividades desarrolladas por el ser humano, debido a la generación de residuos y efluentes que son descargados en los cuerpos de agua convirtiéndolos en foco de contaminación que afecta la vegetación, la fauna y en general contra el ser humano y el medioambiente (Fernandez, Fernandez, & Solis, 2016).

Así mismo, los sedimentos actúan como portadores y posibles fuentes de contaminación a través del depósito de sustancias tóxicas, puesto que estas pueden ser liberadas a la columna de agua por los mecanismos de sorción-desorción y precipitación- disolución, dejándolos disponibles para la vegetación acuática (Ortega, 2015), esto es común con los compuestos hidrofóbicos, como es el caso de los contaminantes orgánicos y los metales, que persisten en el ambiente principalmente por asociarse al sedimento y a la materia orgánica (Nobrega, Souza, & Medeiros, 2017).

Los metales son elementos naturales que suelen encontrarse distribuidos en el ambiente a muy bajas concentraciones; entre los metales de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en los ambientes acuáticos figuran el mercurio (Hg), cromo (Cr), plomo (Pb), cadmio (Cd), entre otros, pues para la mayoría de los organismos la exposición por encima de una concentración umbral puede ser extremadamente tóxica (Pérez, Edmundo, & Coello, 2014).

La organización Mundial de la Salud (OMS) considera que el agua está contaminada cuando su composición o estado natural se ven modificados de tal modo que pierde las condiciones aptas para los usos a los que estaba destinada, presentando alteraciones físicas, químicas o biológicas, por lo que no puede cumplir sus funciones ecológicas (Flandes & Soto, 2017). Es por ello, que el Decreto 3930 de 2010 establece las disposiciones relacionadas con el uso del recurso hídrico, el ordenamiento y las normas de vertimientos para garantizar los criterios de calidad del recurso, complementándose con la Resolución 631 de 2015 que contiene los valores máximos permitidos de diferentes parámetros.

Sin embargo, los parámetros medidos en las aguas superficiales pocas veces dan una idea de la toxicidad de las mismas para los organismos que lo habitan. Por otra parte, un análisis completo de todas las posibles sustancias tóxicas presentes en el medio supone un proceso caro y complicado. Por este motivo, se han desarrollado bioensayos de toxicidad, que consisten en la exposición de organismos controlados (mantenidos en el laboratorio) a muestras contaminadas en distintas concentraciones de sustancias, cuya toxicidad se necesita conocer (Cabrera, Portela-Bens, Gallego, Laiz, & Moreno, 2017). La ecotoxicología describe los efectos adversos de los contaminantes químicos en el ambiente en que son liberados y los organismos que allí viven (Silva, Barros dos Santos, Carvalho, Pereira, & Fortes, 2015).

El río Pasto, aunque no es uno de los ríos más extensos y caudalosos del departamento de Nariño es uno de los más importantes desde el punto de vista ambiental porque atraviesa el área del municipio donde se asienta la ciudad de su mismo nombre y otros municipios aledaños que descargan sus aguas residuales en este, producto de sus diferentes actividades. Desde el punto de vista ambiental, todos los inconvenientes de calidad y cantidad son temas que cobran gran importancia para los entes gubernamentales y la población en general (Cárdenas, López, & Maffla, 2009).

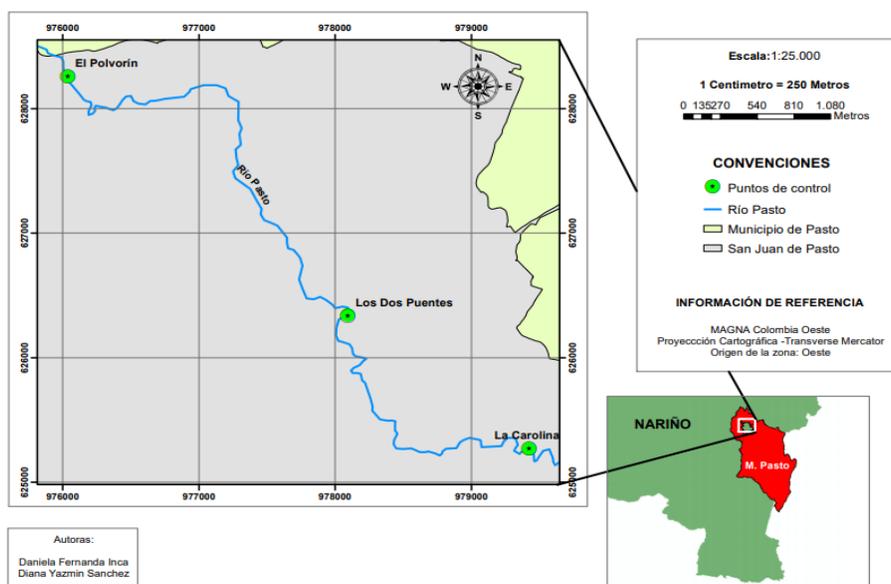
Por lo tanto, la presente investigación pretendió evaluar la ecotoxicidad en el río Pasto en el tramo que atraviesa la zona urbana, en tres puntos donde se presentan vertimientos; por medio de bio-ensayos, utilizando el bio-indicador bulbo de cebolla *Allium cepa*, con series de cinco concentraciones, un control negativo y un control positivo. Asociando la respuesta toxicológica a la presencia de metales en el agua, los sedimentos y la transferencia existente entre los dos componentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización.** El proyecto se realizó en la cuenca media del río Pasto, localizada en el municipio de San Juan de Pasto, departamento de Nariño, Colombia, el tramo cuenta con una distancia de 7,1 Km; su recorrido atraviesa el área urbana de la ciudad y por lo tanto se

caracteriza por recibir el mayor número de descargas de agua residual doméstica e industrial. Además su uso actual es paisajístico el cual se ve intervenido por la presencia de asentamientos humanos en la ribera del mismo (CORPONARIÑO, 2011).

Para la selección de los puntos de muestreo se tuvo en cuenta los sitios de monitoreo efectuados por la autoridad ambiental de la cuenca, estudios realizados anteriormente, la seguridad de la zona, así como también el fácil acceso y la presencia de vertimientos directos de aguas residuales, seleccionando los siguientes puntos: La Carolina con coordenadas  $01^{\circ}12.443'$  LN,  $077^{\circ}15.743'$  LO, Los Dos Puentes con coordenadas  $01^{\circ}13.022'$  LN,  $077^{\circ}16.460'$  LO y El Polvorín con coordenadas  $1^{\circ}14.063'$  LN,  $77^{\circ}17.569'$  LO. En la Figura 1 se observan los puntos que comprendió éste estudio (Ocampo, Sierra, Ferré, Shuhmacher, & Domingo, 2008).



**Figura 1.** Ubicación geográfica de los sitios de muestreo

Se tuvo en cuenta dos épocas del año, una seca y otra húmeda correspondientes al periodo de agosto y noviembre respectivamente, teniendo en cuenta datos suministrados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM, 2017).

**Adaptación del protocolo de evaluación ecotóxica.** El protocolo de ensayo se realizó según la prueba de toxicidad aguda con *Allium cepa* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla establecida por Fiskesjö (1993) y modificada por Ronco, Días y Pica (2004).

Se seleccionó bulbos frescos, orgánicos, de aproximadamente 4 meses de siembra, de la semilla comercial Hybrid Onion Osaka F1, con cuerpos de diámetros entre 15 a 20 mm, se almacenaron en un lugar seco a una temperatura de 17°C, con iluminación indirecta.

Para el control positivo se usó el dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), en concentraciones de 5%, 14%, 35%, 50%, 70%, y para el control negativo agua con macronutrientes. Después de 72 horas se determinaron las longitudes de las raíces.

Para obtener el porcentaje de efecto de inhibición se realizó la siguiente operación (Ronco, Diaz, & Pica, 2004):

$$\begin{aligned} & \textit{porcentaje del efecto de inhibición} \\ & = \frac{\textit{longitud del control} - \textit{longitud de la muestra}}{\textit{longitud del control}} * 100 \end{aligned}$$

**Muestreo y bioensayos.** Se recolectaron cuatro litros de agua cruda y un Kg de sedimentos en cada punto de muestreo usando frascos ámbar debidamente rotulados y bolsas plásticas herméticas respectivamente, se preservaron en neveras portátiles a una temperatura entre 1 y 5 °C, hasta el momento de analizar las muestras teniendo en cuenta las recomendaciones de Ronco, Diaz & Pica, (2004) y Jurado M. (2012).

Para las muestras de sedimentos, los eluatos en fase acuosa se obtuvieron mezclando durante 12 horas en un agitador magnético, y en proporción 1:2, 10 g de sedimento seco con una solución al 2 % de NaCl y se filtró la suspensión utilizando papel filtro (Ocampo, Sierra, Ferré, Shuhmacher, & Domingo, 2008).

Para el análisis de las muestras de agua y eluatos acuosos se realizaron bio-ensayos con disoluciones en concentraciones de 100, 75, 50, 25, 5 % (v/v) cada una con siete réplicas y teniendo en cuenta el procedimiento descrito anteriormente en la adaptación del protocolo.

Adicionalmente, se hicieron análisis de demanda biológica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), oxígeno disuelto (OD), pH, temperatura (T°), cadmio total (Cd), cromo hexavalente (Cr<sub>6+</sub>), cromo total (Cr), mercurio total (Hg), amonio (NH<sub>4</sub>), aluminio (Al), plomo (Pb), hierro (Fe), materia orgánica (MO), y humedad higroscópica (HH).

Para verificar la adaptación del protocolo, se enviaron dos muestras de agua y sedimentos al Laboratorio de Investigaciones Ambientales de la Pontificia Universidad Javeriana para ser analizadas y comparadas con un ensayo de toxicidad estandarizado ISO 11348-3: 2007 (E), por medio del método de bioluminiscencia bacterial (bio-indicador *Vibrio fischeri*).

**Análisis estadísticos.** Para el cálculo de la IC<sub>50</sub>, se empleó el método *Litchfield-Wilcoxon*, planteado por Castillo (2004), realizando un análisis de regresión lineal y se calculó el valor de R<sup>2</sup> (coeficiente de correlación lineal) el cual representa una asociación lineal fuerte entre dos variables que para este caso son concentraciones probadas y porcentaje de inhibición, a partir de la IC<sub>50</sub>, se calcularon las unidades de toxicidad:

$$UT = \frac{100}{IC_{50}}$$

El valor de las unidades tóxicas permite categorizar la toxicidad en niveles, según lo propuesto por Zagatto, Goldstein y Bertolletti (1988), citado en Angulo (2015) en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Nivel de toxicidad basado en unidades tóxicas.

Nivel de toxicidad	No tóxico	Levemente tóxico	Moderadamente tóxico	Tóxico	Muy tóxico
Unidades toxicas	1	1-1,3	1,3-2	2-4	>4

Fuente: Zagatto, Goldstein, & Bertolletti, (1988).

Para el análisis de la relación entre las diferentes variables muestreadas se utilizó la herramienta estadística Análisis de Componentes Principales (ACP) con el programa Past,

este es un método multivariante que analiza la varianza total del conjunto de variables observadas (FERRAN, 2013). De igual manera se realizó un árbol de regresión utilizando el paquete estadístico R, el cual estratifica el espacio de los predictores en una serie de regiones simples que incluyen observaciones con valores similares para la variable respuesta en cuestión, su funcionamiento es hacer una predicción para una determinada observación (Seoane, Carmona, Tarjuelo, & Planillo, 2014).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la adaptación del protocolo se tuvo en cuenta las recomendaciones establecidas por Ronco, Diaz, & Pica, (2004), por lo tanto, durante todo el proceso en los ensayos se mantuvieron condiciones de temperatura igual a 17°C, ruido igual a 48 DSB e iluminación indirecta.

El control negativo se realizó usando agua de llave con macronutrientes, a una disolución del 75%(v/v) con 12 réplicas, se observó su comportamiento 72 horas después, se obtuvo como resultado un crecimiento longitudinal de la raíz igual a 18mm, con lo cual se concluyó que esa sería la longitud máxima del control y con ella se comparó el control negativo y los ensayos de toxicidad.

El control positivo se realizó usando  $K_2Cr_2O_7$  como tóxico de referencia, a partir de una solución madre se prepararon las respectivas diluciones, el modelo de regresión ajustado frente a la respuesta del individuo fue significativo estadísticamente puesto que el valor del  $R^2$  es de 0,88, esto determinó que los resultados indicaron similitudes en cuanto el  $R^2$  del estudio realizado por Zumaela & Esparza, (1995) que para dicho caso arroja un valor de 0,82 muy cercano a 1, lo cual indica que las estimaciones realizadas con este proceso son confiables.

Por lo anterior, se concluyó que el protocolo “test de toxicidad aguda con *Allium Cepa*” se adaptó satisfactoriamente, por lo tanto, se procedió con la realización de los bio-ensayos.

Las Tablas 2 y 3 muestran los resultados de las pruebas de toxicidad aguda realizadas sobre las muestras de agua y sedimentos recolectados en agosto y noviembre de 2017, corresponden a un periodo seco y húmedo respectivamente, utilizando la  $IC_{50}$  (% v/v) como criterio de toxicidad. Como puede verse se encontraron dos niveles diferentes de toxicidad asociados al agua y sedimentos del río Pasto.

**Tabla 2.** Resultados toxicidad muestras de agua Río Pasto

Coordenadas	Nombre	$IC_{50}$ (%v/v) *	$R^2$	criterio	$IC_{50}$ (% v/v) **	$R^2$	Criterio
1°12,443'N 77°15,743'O	La Carolina	66,76	0,948	Moderadamente tóxico	40,36	0,982	Tóxico
1°13,022'N 77°16,460'O	Dos Puentes	46,72	0,932	Tóxico	30,71	0,947	Tóxico
1°14,063'N 77°17,569'O	El Polvorín	30,31	0,926	Tóxico	35,65	0,971	Tóxico

\* a 72 horas agosto 2017, \*\* a 72 horas noviembre 2017,  $IC_{50}$  = Corresponde al valor promedio de la  $IC_{50}$  en % en relación volumen de muestra sobre volumen de diluyente.  $R^2$  = Coeficiente de correlación de la regresión lineal de las curvas dosis-respuesta. **Criterio** = Criterio de toxicidad según la literatura científica.

**Tabla 3.** Resultados toxicidad muestras de sedimentos Río Pasto.

Coordenadas	Nombre	$IC_{50}$ (%v/v) *	$R^2$	Criterio	$IC_{50}$ (% v/v) **	$R^2$	Criterio
1°12,443'N 77°15,743'O	La Carolina	49,68	0,943	Moderadamente tóxico	33,45	0,933	Tóxico
1°13,022'N 77°16,460'O	Dos Puentes	35,83	0,929	Tóxico	67,21	0,944	Moderadamente Tóxico
1°14,063'N 77°17,569'O	El Polvorín	26,38	0,914	Tóxico	57,65	0,95	Moderadamente Tóxico

\* a 72 horas agosto 2017, \*\* a 72 horas noviembre 2017,  $IC_{50}$  = Corresponde al valor promedio de la  $IC_{50}$  en % en relación volumen de muestra sobre volumen de diluyente.  $R^2$  = Coeficiente de correlación de la regresión lineal de las curvas dosis-respuesta. **Criterio** = Criterio de toxicidad según la literatura científica.

En el mes de agosto las muestras de agua recogidas en el sector La Carolina arrojaron una toxicidad moderada, y en los puntos, Dos Puentes y El Polvorín se encontraron en un nivel tóxico, esto puede asociarse con los desechos domésticos, agrícolas e industriales presentes en la zona, dado que en la Carolina el río ya se encuentra impactado por asentamientos urbanos, en Los Dos Puentes existe un colector que descarga agua residual proveniente de 44.509 habitantes del casco urbano de la ciudad y el sector El Polvorín se caracteriza por la

presencia de curtiembres las cuales descargan sus aguas industriales directamente al río sin ningún tratamiento; se han identificado estudios los cuales revelan altos niveles de toxicidad en las corrientes superficiales asociados a estos vertimientos; además en este tramo el río presenta condiciones de alta contaminación por todas las descargas provenientes de la ciudad (CORPONARIÑO, 2011); (Herrera, Rodríguez, Coto, Salgado, & Borbón, 2013); (Barba, Ballesteros, Patiño, & Ramirez, 2013).

Las muestras de sedimentos recogidas en la Carolina en el muestreo de agosto revelaron una toxicidad moderada, mientras que en los puntos los Dos Puentes y El Polvorín se encuentran en un nivel tóxico, las condiciones secas presentes en esta época posiblemente contribuyan con una posible acumulación de materiales tóxicos en la zona, sobre la fase lábil del sedimento debido a menores niveles y caudales de agua con respecto a periodos más lluviosos (Jurado, 2012).

Para el mes de noviembre las muestras de agua se mantienen en un nivel tóxico, y solo La Carolina paso de moderada a tóxica, es posible que lo anterior se deba al período de lluvias que se presenta, lo cual ocasiona un mayor arrastre de contaminantes, particularmente cuando la esorrentía es importante, favoreciendo la fuerte movilidad de metales y demás contaminantes presentes en los sedimentos debido a la re-suspensión de estos y a los procesos de desorción (Martínez, Probst, García, & Ruiz, 2015); (Gómez, Villalba, Acosta, Castañeda, & Kamp, 2004).

Además, en este periodo se observa que la Carolina presenta mayores niveles de toxicidad tanto en las muestras de agua como sedimentos, debido a que aguas arriba de esta zona se desarrollan actividades agrícolas causando contaminación por los usos de pesticidas, herbicidas y abonos, cuyos residuos pueden ser arrastrados por las aguas de esorrentías. (Fuentes, Rojas, Diaz, & Martínez, 2010)

En cuanto a los sedimentos, en época húmeda, Los Dos Puentes y El Polvorín, disminuyen su toxicidad en un nivel, mientras que el agua se mantiene tóxica, esto podría deberse al fenómeno de sorción de la materia orgánica desde los sedimentos hacia la masa de agua adyacente, permitiendo una mayor concentración de los micro-contaminantes en el agua

(Jurado, Bravo, & Guerrero, 2017). Teniendo en cuenta la época húmeda, como se explicó anteriormente, los efectos climáticos pueden diluir, re-movilizar, o erosionar los contaminantes de los sedimentos. Las condiciones de oxidación también pueden facilitar la liberación de metales pesados hacia los sistemas acuáticos (Mowat & Bundy, 2001); (Martínez, Probst, García, & Ruiz, 2015).

A manera general se observa que todos los puntos muestreados presentan algún nivel de toxicidad, lo que indica que las aguas residuales domésticas e industriales sin tratar que llegan al río son una fuente importante de contaminación orgánica y química tanto en el agua como en los sedimentos (Martínez, Probst, García, & Ruiz, 2015).

Según los análisis realizados en los laboratorios de la universidad Javeriana para el mes de agosto en la zona la Carolina arroja una  $IC_{50}$  de 34,9 (%v/v) para agua y 48,1 (%v/v) para sedimentos, lo cual corresponde a un nivel de toxicidad moderado, para el mes de noviembre en la zona El Polvorín arroja una  $IC_{50}$  de 34,9 (%v/v) para agua y >75 (%v/v) para sedimentos, corresponden a un nivel moderadamente tóxico y marginalmente tóxico respectivamente, estos datos confirman los resultados realizados con el test de *Allium cepa* dado que en los dos muestreos se obtuvieron niveles de toxicidad similares, observando que la cebolla presenta una mayor sensibilidad que la bacteria *Vibrio Fischeri*. Estudios realizados en monitoreo ambiental con diferentes bio-ensayos confirman que la prueba de *Allium cepa* es más sensible que las pruebas bacterianas y otros organismos (Kwasniewska, Nalecz, Skrzypczak, Plaza, & Matejczyk, 2012) (Morais & Marin, 2009).

En las Tablas 4 y 5 se observan los valores de los parámetros físico-químicos medidos para aguas y sedimentos en los puntos muestreados.

**Tabla 4.** Características fisicoquímicas medidas en el agua.

Sitio de muestreo	La	La	Los Dos	Los Dos	El Polvorín	El Polvorín
	Carolina	Carolina	Puentes	Puentes		
	ago-17	nov-17	ago-17	nov-17	ago-17	nov-17
Temperatura (°C)	11,5	15	12,5	15	12,8	15
Oxígeno disuelto (mg/L)	8	6	5,5	6	4,5	5
pH	6,8	8,3	6,6	8,3	6,5	8,4
DBO (mg/L)	5,72	<2	32,81	22,01	70,03	38,7
DQO(mg/L)	74	47,2	91,2	99	122,3	125,7

Cadmio total (mg/L)	<0,002	< 0,002	<0,002	< 0,002	0,044	0,044
Cromo total (mg/L)	<0,011	< 0,011	<0,011	< 0,011	<0,011	<0,011
Cromo <sub>+6</sub>	0,04	0,04	0,03	0,03	0,05	0,05
Mercurio total (mg/L)	<0,0007	< 0,0007	<0,0007	< 0,0007	<0,0007	< 0,0007
Hierro (mg/L)	0,89	0,89	0,89	0,89	1,1	1,1
Plomo (mg/L)	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45
Aluminio (mg/L)	0,174	0,174	0,28	0,28	0,242	0,242
Amonio (mg/L)	0,7	3,5	0,6	1,5	2,6	4,4

(<): Menor que limite de cuantificación del método.

**Tabla 5.** Características fisicoquímicas medidas en sedimentos.

Sitio de muestreo	La Carolina	La Carolina	Los Dos Puentes	Los Dos Puentes	El Polvorín	El Polvorín
	ago-17	nov-17	ago-17	nov-17	ago-17	nov-17
Materia Orgánica (%)	5,36	1,58	4,39	1,4	8,54	6,07
pH	6,61	6,61	6,46	7,15	6,97	6,97
Humedad higroscópica (%)	1,72	1,81	1,99	2,01	0,49	4,11
Cromo <sub>6+</sub> (%)	26,15	23,3	32,5	22,2	48,4	35,1
Plomo (µg/g)	0	0	0	0	26,7	26,7

Como se puede observar en la Tabla 4, el pH en las muestras de agua varía entre 6,5 y 8,4, lo cual indica un entorno débilmente alcalino, con una buena capacidad de amortiguación (Martinez, Probst, Garcia, & Ruiz, 2015), estos valores se encuentran dentro del rango establecido en los criterios de calidad del PORH “Río Pasto”.

En cuanto a OD su nivel disminuye a medida que aumentan los vertimientos sobre el río, por lo general una contaminación por aguas residuales o materia fecal disminuye este parámetro, en este estudio se encontró valores entre 4,5 y 8 mg/L. La DBO se encuentra dentro de los límites permisibles para el punto La Carolina ( $\leq 15$ mg/L), sin embargo, para los Dos Puentes y el Polvorín este valor aumenta significativamente alcanzando un valor de hasta 70,03 mg/L (CORPONARIÑO, 2011). Los valores de DQO aumentan de manera significativa a lo largo del cauce debido a concentraciones fuertes en carga contaminante, lo cual indica que existen condiciones de oxidación-reducción sobre la materia orgánica, consumiéndose niveles elevados de oxígeno (Argota, Miranda, & Argota, 2014).

Los resultados de  $\text{NH}_4$  reportados son característicos de un efluente muy contaminado, ya que este elemento se presenta por la descomposición de compuestos orgánicos

nitrogenados, la presencia de este compuesto se considera como una prueba química de contaminación reciente y peligrosa (Leiva, Masias, Joffre, Aveiga, & Alcívar, 2016)

El  $Cr_{6+}$  se asocia principalmente a actividades de curtido, estas se llevan a cabo en el sector El Polvorín, sin embargo se presentaron valores bajos y similares en los puntos muestreados, esto se debe a que los muestreos se realizaron en días no laborales (Barba, Ballesteros, Patiño, & Ramirez, 2013).

Los niveles de Cr, Cd, Hg y Pb no pudieron ser medidos debido a que en el período de muestreo muchos de los valores observados de los metales estuvieron por debajo del nivel de detección utilizado en laboratorio y por lo tanto no se pudo inferir sobre su comportamiento.

El ACP para las muestras de agua en el primer componente explica el 54,89% de la varianza y relaciona la DQO, DBO, Cd,  $Cr_{6+}$ , Fe con los niveles de toxicidad presentes en las muestras.

Según Barba, Ballesteros, Patiño, & Ramírez (2013) la DBO y DQO son indicadores de la presencia de sustancias tóxicas tales como metales pesados y solventes entre otras, que inhiben su bio-degradabilidad. De igual manera Martínez, Probst, García, & Ruiz, (2015) indican que Cd, Fe y  $Cr_{6+}$ , son característicos de aguas provenientes de descargas urbanas e industriales. Se ha demostrado que el Cd y  $Cr_{6+}$  son contaminantes altamente peligrosos para los ecosistemas acuáticos debido a su persistencia y elevada toxicidad (Jimenez, 2012), también el Fe se relaciona con aguas de alta carga orgánica produciendo asociaciones y complejos químicos (Hernandez, Gomez, Juarez, & Hernandez, 2017).

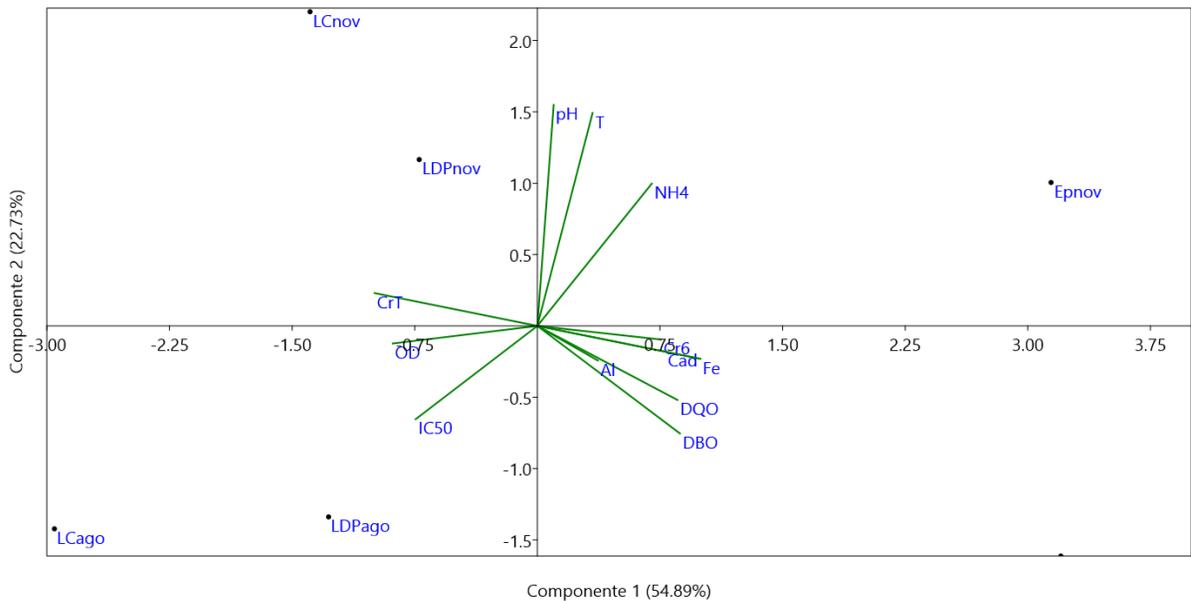
Además, se observó una relación entre OD y  $IC_{50}$  de manera directamente proporcional, los niveles de oxígeno reportados fueron bajos afectando el proceso de descomposición de la MO lo cual puede influir en los niveles de toxicidad encontrados (Morales, Salazar, & Urrea, 2016) (Ibarcená, 2012); el déficit de oxígeno causado indirectamente por la MO se considera el factor más importante en la contaminación de ríos ya que se necesita de una gran cantidad de OD para la oxidación de la materia orgánica o inorgánica, en la columna de agua y en los sedimentos (Sanchez, 2015).

El componente dos explica el 22,73% de la varianza y relaciona la T° y pH, el aumento de la temperatura produce efectos sobre la concentración de OD, velocidad de reacciones bioquímicas, pH y toxicidad, causando perturbaciones ecológicas en el agua (Castaño & Abraján, 2009).

En la Figura 2, se representa el estudio de las relaciones existentes entre las zonas de muestreo, donde se aprecia el mapa de posición de los puntos de muestreo, con respecto a los dos componentes principales.

En el componente uno se diferencian dos grupos espacialmente, el primero agrupa La Carolina y Los Dos Puentes, donde se encuentran mayores niveles de OD, Cr, IC<sub>50</sub>; mientras que en el segundo solo se encuentra El Polvorin el cual tiene mayores niveles de DBO, DQO, Cd, Fe, Cr<sub>6+</sub>, Al.

En el segundo componente se diferencian dos grupos por tiempo, puesto que en noviembre los niveles de T°, NH<sub>4</sub> son mayores a los reportados en agosto y su pH es básico.

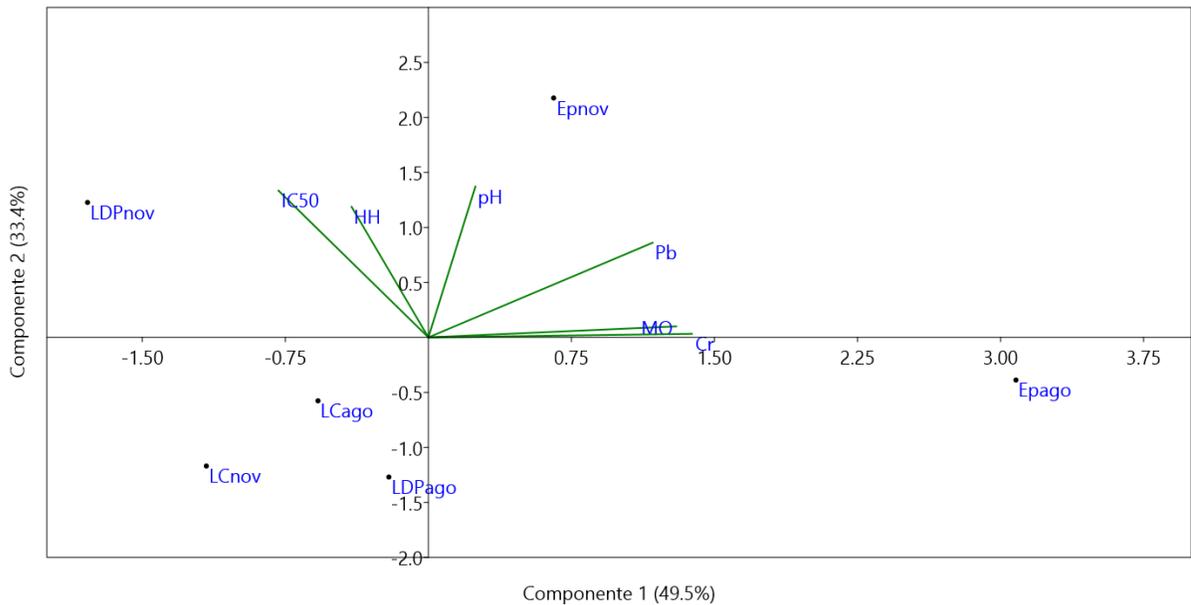


**Figura 2.** Gráfica de dispersión para aguas

En el ACP para las muestras de sedimentos en el primer componente se explica el 49,5% de la varianza y relaciona el  $\text{Cr}_{6+}$ , Pb y MO, esto se debe a que la MO es uno de los principales sumideros de metales como el Cr y Pb, es probable que el Pb forme complejos orgánicos estables y/o que se una a sulfuros (Martínez, Probst, García, & Ruiz, 2015) aunque existen discrepancias sobre sus niveles indicadores de polución. Pozo, (2017) indica que en áreas expuestas a aguas residuales se presentan niveles de Pb entre 30 y 70  $\mu\text{g/g}$ , en este estudio se evidenciaron niveles de Pb en la zona El Polvorín con niveles de 26,6  $\mu\text{g/g}$ , por otro lado el Cr de mayor importancia toxicológica en estado hexavalente, se presenta por las actividades de curtido de pieles, actividades textiles, entre otras, la forma química de este dependerá de la presencia de MO, si está presente en grandes cantidades, el  $\text{Cr}_{6+}$  se reducirá a  $\text{Cr}_{3+}$ , el cual se podrá absorber en las partículas o formar complejos insolubles y ser incorporados a los sedimentos (Gonzales & Aportela, 2001). Por lo tanto, existe una posible relación entre la MO y la toxicidad como lo indica Jurado (2012), lo que puede explicar los valores encontrados.

Por otra parte en el componente dos se explica el 33,4% de la varianza relacionando el pH, con la  $\text{IC}_{50}$ , la toxicidad a causa de la presencia de metales en sedimentos se relaciona con el pH puesto que este afecta a la especiación química y a la movilidad de muchos metales pesados (Narvaez, 2014), en medios muy ácidos o muy alcalinos se encuentran en mayor disponibilidad (Mendoza, Ribas, & Villalobos, 2017); los valores de pH obtenidos en sedimentos estuvieron en un rango de 6,46 – 7,15 “suelos alcalinos”, lo cual indica la presencia de metales en forma de hidróxidos en los sedimentos (Fotalvo & Marrugo, 2017).

En la Figura 3, el componente uno diferencia dos grupos de acuerdo a su espacialidad, El Polvorín presenta mayores niveles de MO,  $\text{Cr}_{+6}$ , y Pb a diferencia de La Carolina y Los Dos Puentes. Por otro lado, el segundo componente diferencia al Polvorín y Los Dos Puentes por tener un mayor pH,  $\text{IC}_{50}$  y HH.



**Figura 3.** Gráfica de dispersión para sedimentos

La regresión con árboles de decisión permitió corroborar lo expuesto por el ACP, en la Figura 4 se muestra el árbol de regresión que establece la relación de los niveles de toxicidad encontrados con T°, DQO y pH. Los niveles más altos de toxicidad se relacionan con temperaturas superiores a 12°C, dentro de esta rama los niveles de DQO > 95,1 se relacionan con un valor IC<sub>50</sub> de 32,2 % (v/v). En la siguiente rama se observó que a menores niveles de pH (<8,35), existe un aumento en los niveles de toxicidad.

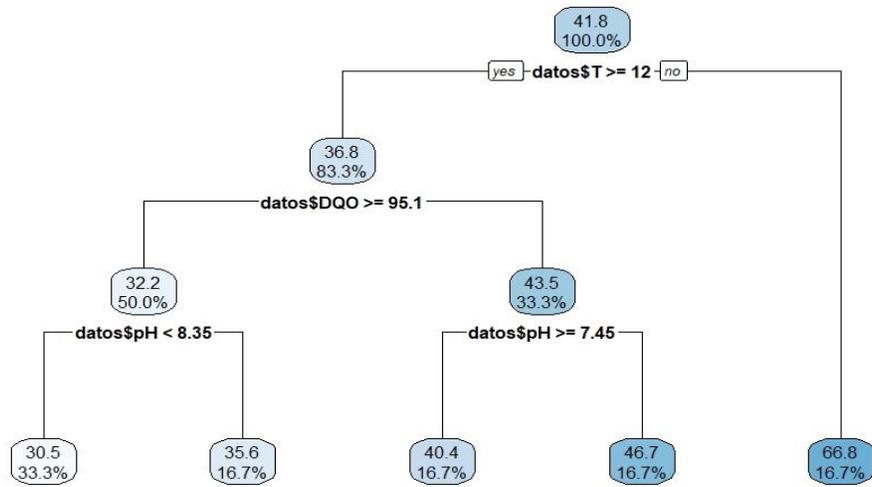


Figura 4. Árbol de regresión para agua

## CONCLUSIONES

El test de *Allium cepa* permitió verificar la presencia de contaminantes tóxicos por medio de la inhibición del crecimiento de la raíz, arrojando una respuesta satisfactoria con respecto a las pruebas estandarizadas, por lo tanto, se considera como un bio-indicador apto para pruebas de toxicidad por su sensibilidad, fácil manejo, adquisición y bajos costos.

Al diagnosticar el nivel de ecotoxicidad en la parte media del río Pasto se encontró que tanto las muestras de agua como de sedimentos arrojaron dos niveles de toxicidad, tóxico y moderadamente tóxico, esto indica el gran impacto que están generando los diferentes vertimientos que se hacen sobre el río.

El análisis de componentes principales indicó una relación espacio/temporal entre las variables medidas separándolas por componentes asociando la toxicidad con DBO, DQO, MO, pH y algunos metales medidos. Cabe resaltar que es necesario tomar otros parámetros que permitan tener una mayor aproximación de las causas de la toxicidad del río.

Este estudio da lugar a futuras investigaciones que arrojen en mayor detalle el estado ecotoxicológico del río Pasto y así alertar a las autoridades ambientales competentes para que tengan un mayor control en la normativa y lleven a cabo acciones que permitan la recuperación y protección de los recursos hídricos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, R. (2015). Estudio diagnóstico de la ecotoxicidad de afluentes del río Guadalquivir, en el área comprendida entre las tipas y el angosto de San Luis provincia cercado – Tarija. *Acta Nova*. 7(1): 28-46.
- Argora, G., Argota, U., & Lannacone, J. (2016). Sustainable environmental cost relative to the physicochemical variability of water on the availability of metals in the ecosystem of san juan, santiago de cuba, cuba. *The Biologist (Lima)*, 14(2), 219-232.
- Argota, G., Miranda, E., & Argota, H. (2014). Ecotoxicological prediction of chemistry-physical parameters, lead and cadmium in the ramis river-titicaca watershed, puno-peru. *Investig*, 5(3), 24-35.
- Barba, L., Ballesteros, Y., Patiño, P., & Ramirez, C. (2013). Impacto Generado por los Vertimientos de las Curtiembres en Corrientes Superficiales Usando Pruebas de Toxicidad. *Ingenieria de Recursos Naturales y del Ambiente*(12), 79-90. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231130851008>
- Bravo, J., & Guerrero, A. (2016). *Evaluacion de la toxicidad aguda de los sedimentos de ribera del rio Pasto en la cuenca alta*. Pasto: Universidad Mariana.
- Cabrera, R., Portela-Bens, S., Gallego, R., Laiz, I., & Moreno, I. (2017). *Ecotoxicología del Microbentos*. Recuperado de <http://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/19250?show=full>
- Cárdenas, L., López, M., & Maffla, F. (2009). La planificación del río pasto a partir de una modelación hidrodinámica. *UNIMAR*, 27(4), 57-75.
- Castaño, J., & Abraján, P. (2009). Analisis de la calidad del agua superficial del rio Sabinal, Tuxtla Gutierrez, Chiapas, Mexico. *Lacandonia*, 3(2), 67-77.
- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones (No. 615.9 C3). Mexico: IMTA, IDRC. 189p.
- CORPONARIÑO. (2011). *PORH rio Pasto*. Pasto. Recuperado de <http://corponarino.gov.co/expedientes/descontaminacion/porhriopasto.pdf>
- Fernandez, M., Fernandez, T., & Solis, G. (2016). Percepcion de la poblacion sobre los niveles de contaminacion ambiental del Rio Milagro y grado de conocimiento

- preventivo social sobre el efecto de su carga contaminante. *Ciencia UNEMI*, 9(21), 125-134.
- FERRAN, A. (2013). *Análisis factorial: análisis de componentes principales*. Barcelona: Universidad Pompeu Fabra.
- Fiskesjö, G. (1993). The Allium-test as a standard in environmental monitoring. *Environmental toxicology and water quality: an international journal*, 8, 291-298.
- Flandes, M., & Soto, J. (2017). comparación de distintos métodos de secado (3) para lodos, de la planta de tratamiento de aguas residuales de SN Jeronimo, del municipio de Purísima del Rincón, GTO. *Jovenes en la ciencia*, 3(2), 350-356.
- Fotalvo, A., & Marrugo, J. (2017). Metales Pesados en Sedimentos de la Cuenca Baja del Río Magdalena, Colombia. *Memorias III Seminario Internacional de Ciencias Ambientales* (págs. 67-70). SUE-Caribe.
- Fuentes, M., Rojas, L., Diaz, A., & Martínez, G. (2010). Distribución de metales pesados en los sedimentos superficiales del Saco del Golfo de Cariaco, Sucre, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 58. Recuperado de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442010000700012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442010000700012&script=sci_arttext)
- Gómez, A., Villalba, A., Acosta, G., Castañeda, M., & Kamp, D. (2004). Metales pesados en el agua superficial del río San Pedro durante los años 1997 y 1999. *Int. Contam. Ambient.* 1-8.
- Gomez, O. (2018). Contaminación del agua en países de bajos y medianos recursos, un problema de salud pública. (F. Escobar, & C. Lopez, Edits.) *de la facultad de medicina*, 66(1), 7-8. doi:<https://doi.org/10.15446/v66n1.70775>
- Gonzales, Y., & Aportela, P. (2001). Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio en larvas de artemia salina. *Anuario Toxicología*, 1(1), 104-108.
- Hernandez, S., Gomez, A., Juarez, P., & Hernandez, G. (2017). Determinación de hierro y manganeso en el agua subterránea del municipio de Apan, Hidalgo, México. *Reaxion*, 5(1).
- Herrera, J., Rodríguez, J., Coto, J., Salgado, V., & Borbón, H. (2013). Evaluación de metales pesados en los sedimentos superficiales del río Pirro. *Tecnología en Marcha*, 26(1), 27-36.
- Ibarcená, L. (2012). Pollution Incidence with Eco toxic Metals in the Benthic Marine Fauna in Ite Bay, Jorge Basadre Grohmann Province of Tacna. *Ciencia y Desarrollo*, 14, 28-34.

- IDEAM- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2017). *Boletín Climatológico Mensual*. IDEAM. Recuperado de [http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/climatologico-mensual?p\\_p\\_id=110\\_INSTANCE\\_xYvIPc4uxk1Y&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_110\\_INSTANCE\\_xYvIPc4uxk1Y\\_struts\\_action=%2Fdocument\\_library\\_display%2Fview](http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/climatologico-mensual?p_p_id=110_INSTANCE_xYvIPc4uxk1Y&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_110_INSTANCE_xYvIPc4uxk1Y_struts_action=%2Fdocument_library_display%2Fview)
- Jimenez, D. (2012). Cuantificación de metales pesados (Cadmio, Cromo, Níquel y Plomo) en agua superficial, sedimentos y organismos (*Crassostrea columbiensis*) ostión de mangle en el puente Portete del estero salado (Guayaquil). Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Jurado, M. (2012). *Evaluación de la ecotoxicidad acuática en el río Cauca*. Cali: Universidad del Valle.
- Jurado, M., Bravo, J., & Guerrero, A. (2017). Estudio piloto de la toxicidad de los sedimentos del río Pasto en el tramo La Playita-Puente La Carolina asociada al uso de pesticidas. *AVANCES Investigación en Ingeniería*, 195-209.
- Kwasniewska, J., Nalecz, G., Skrzypczak, A., Plaza, G., & Matejczyk, M. (2012). An assessment of the genotoxic effects of landfill leachates using bacterial and plant tests. *Ecotoxicology and environmental safety*, 55-62. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.08.020
- Leiva, A., Masias, E., Joffre, A., Aveiga, A., & Alcívar, S. (2016). La Alcalinidad y la Nitrificación en una Laguna Aireada a Escala Piloto. *European Scientific Journal*, 12(36), 89-94. doi:<http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n36p89>
- Martínez, G., & Senior, W. (2001). Especiación de metales pesados (Cd, Zn, Cu, Cr) en el material en suspensión de la pluma del río Manzanares, Venezuela. *Interciencia*, 26(2), 53-61. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/339/33905302/>
- Martínez, M., Probst, A., García, J., & Ruiz, E. (2015). Influence of anthropogenic inputs and a high-magnitude flood event on metal contamination pattern in surface bottom sediments from the Deba River urban catchment. *Science of the total environment*, 514, 10-25. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.078>
- Martínez, M., Probst, A., García, J., & Ruiz, E. (2015). Influence of anthropogenic inputs and a high-magnitude flood event on metal contamination pattern in surface bottom sediments from the Deba River urban catchment. *Science of the Total Environment*, 514, 10-25. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.078>
- Masís, F., Valdez, J., Coto, T., & León, S. (2008). Residuos de agroquímicos en sedimentos de ríos, poás, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 32(1), 113 - 123. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43632111>

- Mejia, J., Espinoza, G., Ilizaliturri, C., & Chipres, J. (2014). Uso de bioensayos en la evaluación de la calidad del agua del pantanode Santa Alejandrina, Minatitlán, Veracruz. México. En A. Botello, J. Rendón von Osten, J. Benítez, & G. Gold-Bouchot, *Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias* (Tercera ed., págs. 87-94). Mexico: uac, unam-icmyl, cinvestavUnidad.
- Mendoza, L., Ribas, J., & Villalobos, K. (2017). *Determinación de metales pesados cadmio, níquel, plomo y zinc en la zona de influencia del relleno sanitario de sonsonate, el salvador*. El Salvador: universidad de El Salvador.
- Morais, D., & Marin, M. (2009). Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation research/ reviews in mutation research*, 71-81. doi:10.1016/j.mrrev.2009.06.002
- Morales, S., Salazar, M., & Urrea, J. (2016). Macroinvertebrate and Periphyton Community Composition and Structure of the Ejido River, Popayan - Cauca. *Revista de ciencias*, 20(2). doi:http://dx.doi.org/10.25100/rc.v20i2.4670
- Mowat, F., & Bundy, K. (2001). Correlation of field-measured toxicity with chemical concentration and pollutant availability. *Environment International*, 27, 479 – 489.
- Narvaez, J. (2014). *Caracterización Química y Ecotoxicológica de Metales Pesados en Sedimentos de las Riberas del Río Machángara, Sector Parque Industrial*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Nobrega, F., Souza, R., & Medeiros, G. (2017). Avaliação ecotoxicológica de água e sedimento de um reservatório de água urbano e costeiro do nordeste brasileiro. *Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*, 394-411.
- Ocampo, W., Sierra, J., Ferré, N., Shuhmacher, M., & Domingo, J. (2008). Estimating the environmental impact of micro-pollutants in the low Ebro River (Spain): An approach based on screening toxicity with *Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 715-721. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.03.055
- Ortega, D. (2015). *Cuantificación de los niveles de metales pesados (Pb,Hg) en sedimentos en tres localidades del Estero Grande, en la zona costera de la provincia de el Oro 2014*. Machala: Universidad tecnica de Machala.
- Palao, Y. (2017). *Bioensayos de ecotoxicidad aguda de las aguas residuales de la ciudad de Puno sobre Hyalella cuprea (Anphípoda: Hyalellidae) cultivada en laboratorio*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Pérez, G., Edmundo, P., & Coello, H. (2014). Predicción ecotoxicológica de parámetros físicoquímicos, plomo y cadmio en el río ramis-cuenca hidrográfica Titicaca, Puno-Perú. *Investig*, 1-12.

- Pozo, F. (2017). Presencia de metales pesados Cadmio y Plomo en el estuario del Río Chone-Manabi, Ecuador. *Ciencia UNEMI*, 10(24), 123-130.
- Ronco, A., Diaz, M., & Pica, Y. (2004). Monitoreo ambiental. En G. Castillo, *Ensayos toxicologicos y metodos de evaluacion de calidad de aguas* (págs. 23-30). Mexico: IMTA.
- Sanchez, D. (2015). *calidad del agua en rios* . Castilla : Universidad de Castilla-la-mancha.
- Seoane, J., Carmona, C., Tarjuelo, R., & Planillo, A. (09 de 2014). Análisis bioestadístico con modelos de regresión en R. Recuperado de [http://www.uam.es/personal\\_pdi/ciencias/jspinill/CFCUAM2014/Trees-CFCUAM2014.html](http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/jspinill/CFCUAM2014/Trees-CFCUAM2014.html)
- Silva, J., Barros dos Santos, I., Carvalho, L., Pereira, N., & Fortes, R. (2015). Principios bioéticos aplicados a los estudios ecotoxicológicos acuáticos. *Bioetica*, 406-415. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422015232079>
- Trejo, R., & Hernandez, V. (2004). Riesgos a la salud por presencia del aluminio en el agua potable . *Conciencia Tecnológica*, 25.
- Venkatramreddy, V., Vutukuru, & Tchounwou, P. (2010). Ecotoxicology of Hexavalent Chromium in Freshwater Fish: A Critical Review. *Environ Health*, 129-145.
- Wieczerek, M., Namieśnik, J., & Kudlak, B. (2016). Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality: A review. *environment international* 94, 341-361. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2016.05.017>
- Zagatto, P., Goldstein, E., & Bertoletti, E. (1988). Toxicidade de efluentes industriais da bacia do rio Piracicaba. *Ambiente: revista CETESB de tecnologia*, 39-42.
- Zumaela, M., & Esparza, M. (1995). *Toxicidad Aguda del Cromo Usando Allium Cepa L.* Lima: CEPIS/OPS.